

流式細胞儀使用作業要點

2021.12 修訂

設備簡介：

1.廠牌型別：

- 美國 BECTON DICKINSON FACSriaII_u 二台 (雷射波長 375 & 405 & 488 & 635nm)
- 美國 BECTON DICKINSON FACSCalibur 一台 (雷射波長 488 & 635nm)
- 美國 BECTON DICKINSON BD LSR II 一台 (雷射波長 405 & 488 & 635nm)
- 萊富生命科技 ThermoFisher Attune NxT 一台 (雷射波長 405 & 488 & 561 & 635nm)

2.主要功能：

(1) ANALYSIS：including cell surface and cytoplasm analysis

- Cell Marker Analysis (Ag-Ab)
- Cell Cycle Analysis (DNA content & sub-G1)
- Apoptosis and Necrosis
- Free Radical (ROS)
- Membrane Potential
- pH value
- [Ca²⁺]

(2) SORTING

- 一般 Sorting
- 無菌 Sorting
- ACDU (clony：cell/well)

註：

1. Analysis 項目中：pH value、[Ca²⁺]二項目，因其實驗條件特殊，牽涉到實驗設計、校正曲線及應用軟體的配合等因素，故目前尚未正式提供服務，若有需要請事先與技術員溝通討論。其餘項目皆已接受委託上機。
2. 基於雷射使用壽命及精確度之要求考量，原則上 FACSriaII_u 只提供 SORTING 的服務，ANALYSIS 項目則在並他分析儀上機。各台儀器亦開放由 user 自行上機，有意願者可向本中心提出申請，經訓練之後，通過資格檢定考試，即可自行上機。

放置地點：

第一醫學大樓九樓「貴重及共同儀器中心」(Room:0910)

開放時間：

- 1.週一至週五 AM 8:30~PM 5:00
- 2.下班時間或假日：(僅限 通過認證考試、可自行上機者)
請自行使用個人學生證或識別證刷卡進出，並切勿借給他人使用。實驗結束請確實關閉電燈及感應門。

申請原則：

機型 FACSCalibur 或 BD LSR II 或 ThermoFisher Attune NxT

1. 委託上機或自行上機已全面開放線上預約：
網址如下：<https://insreservation.cgu.edu.tw/labs/4>
2. 預約辦法：細節請參照網頁說明
 - (1) 周一 AM9:00 開放預約至下下周
 - (2) 當天無法自行更改預約或刪除預約，請聯繫技術員處理

註：

- a.操作講習由欲使用者提出申請，本中心將視人數與實際需要不定期舉辦。
- b.技術鑑定認可標準：
 - 機器的工作原理。
 - 開機前的準備工作。(PBS 的準備、管路的檢視、工作記錄的查詢、樣品的要求等)
 - 開機後的測試。(壓力、幫浦、雷射、流速、機器條件測試等)
 - 軟體與機器間的相互關係。
 - 關機前的管路清潔，確實記錄使用狀況。
 - Troubleshooting。
- c.經鑑定合格者，需在本中心人員上班時間內，使用超過 10 次或 15 個小時以上，才能在非上班時間使用。若於二個月內完全無上機記錄者，則須再重新鑑定方可再上機。但若使用時數累計超過 100 小時很熟練的 USER，將可提出證明，無須再認證！「備註：證明資料請 USER 自行舉證，由本中心審核」。

機型 FACSriaII

1. 委託上機或自行上機已全面開放線上預約：
網址如下：<https://insreservation.cgu.edu.tw/labs/4>
2. 預約辦法：細節請參照網頁說明
 - (1) 周一 AM9:00 開放預約至下下周
 - (2) 當天無法自行更改預約或刪除預約，請聯繫技術員處理
 - (3) 委託上機者，請提早和技術員連繫確認實驗內容、以利實驗之進行

註：

a.基於降低儀器損壞率及提昇研究能量，中心提供每年一至二次的操作訓練及認證，每次三至四人，申請資格評選標準，請洽中心技術員。

注意事項：

1.受訓時間將由中心公告，約每年寒假期間。

2.凡接受操作訓練者，受訓前須自行購置標準品 accudrop beads 20000/瓶，並在一個月內接受認證考試，訓練期間如需技術員陪同上機練習，將依陪同上機收取費用。

b.申請各台分析儀分析操作資格：須有操作各台分析儀的認證並從事達五十小時以上的FACS分析，或已具備FACS AriaII_u分選操作認證。同時，FACS AriaII_u的操作新手，如連續一個月未上機，需重新認證；但具有連續操作200小時以上之使用者另計。

c.經鑑定合格者，需在本中心人員上班時間內，使用超過15次以上，才能在非上班時間使用。若於一個月內完全無上機使用記錄者，則須再重新認證方可再使用。但若使用時數累計超過200小時很熟練的USER，將可提出證明，無須再認證！「備註：證明資料請USER自行舉證，由本中心審核」。

收費原則：

1. 收費標準：

(a) 流式細胞分選儀 sorting service

FACS AriaII _u 開機費 500/次，另委託無菌分選為 1000/次			
機 型 FACS AriaII _u	項 目	收 費 標 準 (元/時)	
		校 內	校 外
光源配備： 488nm laser 633 nm laser 375 或 405 nm laser 軟體：FACSDiva	A：細胞分選服務		
	委託上機	500	1000
	自行上機 (含實驗教學)	100	不開放
	B：一般 analysis		
	委託上機	500	1000
	自行上機 (含實驗教學)	100	不開放

(b) 流式細胞分析儀 analysis service

機 型 FACSCalibur	項 目	收 費 標 準 (元/時)	
		校 內	校 外
光源配備： 488 nm laser 633 nm laser 軟體：CellQuest Pro	委託上機	500	1000
	技術員陪同教學 指導使用	500	1000
	自行上機 (含實驗教學)	60	不開放
機 型 Thermo Attune NxT	項 目	收 費 標 準 (元/時)	
		校 內	校 外
光源配備： 488 及 633 nm laser 561 及 405 nm laser 軟體：Attune NxT Software	委託上機	500	1000
	技術員陪同教學 指導使用	500	1000
	自行上機 (含實驗教學)	60	不開放
機 型 BD LSR II	項 目	收 費 標 準 (元/時)	
		校 內	校 外
光源配備： 488 nm laser 633 nm laser 405 nm laser 軟體：FACSDiva	委託上機	500	1000
	技術員陪同教學 指導使用	500	1000
	自行上機 (含實驗教學)	60	不開放

2.收費方式：

固定每年三、六、九、十二月份，將每三個月的總費用統計並開列收費明細表，經委託部門認簽後，交由會計轉帳。

如非由研究計畫轉帳而自行付費者，需於總務處出納繳費。

樣品準備:

1.自備品：

- (1) 41~53um nylon mesh
- (2) FALCON #2052 12x75 mm plastic tube
- (3) pipets (200~1000ul) & tips
- (4) 隨身碟(存取資料用)

2.樣品最終濃度： $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ cells/ml，樣品在上機前才過濾，過濾完請馬上上機，以避免管路堵塞。

3.樣品處理不當而導致機器無法正常運作者，將請委託部門重新處理樣品或取消上機。

注意事項:

1.委託上機：

Sorting case：若需取消預約，請務必提前 1 日通知本中心，否則將收取開機費用。
(註：本中心上機前需花費 1~2 小時清洗管路及暖機，甚至提前加班，為避免浪費人力、時間、藥品及雷射壽命，請勿臨時取消實驗)。

Analysis case：若需取消預約，請提前 2 小時通知本中心，否則將收取該預約時段之費用。

2.自行上機：

若超過預約時間半小時未上機，本中心得將此時段安排給其他需要上機者。若發現實驗出問題無法上機，請親自來取消預約或打電話委託管理員代為取消預約，否則收取該預約時段之費用。

3.不當使用設備而發生故障時，由使用之研究室負擔修復費用。

4.違反使用規定三次者，即取消其使用資格，且一年內不得再申請。

5.機器發生異常時，請立即通知中心技術員，若無法即時處理，請依正確程序關機，並詳細填寫使用記錄。

連絡人:

呂雅芬小姐

電話：(03)211-8800 轉 5428

E-mail：yafenlu@mail.cgu.edu.tw